Journal of Metallurgical and Materials Engineering, 36, 3. 2025. (55-64)

Ferdowsi University of Mashhad

Journal of Metallurgical and Materials Engineering

https://jmme.um.ac.ir

Iron&Steel Society of Iran

Developing Antibacterial Materials: Synthesis and Characterization of Cerium-Doped Zinc Oxide Nanoparticles

Research Article

Nadia Mahmoudi Khatir[1], Fariba Ebadi Fallah[2], Zahra Nazem Bokaee[3], Ali Mohammadi[4], Hadi Khorsand Zak[5]
Ali Khorsand Zak[6]

DOI: 10.22067/jmme.2025.92358.1193

1- Introduction

Zinc oxide nanoparticles (ZnO NPs) are among the most important metal oxide nanoparticles due to their unique physicochemical properties, high chemical and thermal stability, low toxicity to humans, and broad-spectrum antimicrobial activity. These nanoparticles have found extensive applications in medicine, pharmaceuticals, food packaging, and hygiene industries. ZnO NPs exert their antibacterial effects by penetrating bacterial cell walls and membranes, disrupting membrane integrity, generating reactive oxygen species (ROS), and interfering with metabolic activities, ultimately leading to bacterial cell death. Moreover, their small size and high surface-to-volume ratio play a crucial role in enhancing their antibacterial efficacy. On the other hand, cerium oxide nanoparticles (CeO_2 NPs) have recently attracted significant attention due to their high oxygen storage and transfer capacity, antioxidant and catalytic properties, and chemical stability. These nanoparticles, possessing dual oxidation states (+3 and +4), play an effective role in modulating oxidative stress and increasing ROS generation. The combination of these two types of nanoparticles and doping ZnO with cerium ions represents a novel strategy to enhance antibacterial properties and improve the crystalline and chemical structure of the nanoparticles.

2- Materials and Methods

In this study, pure ZnO nanoparticles and cerium-doped ZnO nanoparticles ($Zn_{0.98}Ce_{0.02}O_2$) were synthesized via a green sol-gel method. The antibacterial activity of the nanoparticles at concentrations of 1000 and 4000 ppm was evaluated against Escherichia coli (Gram-negative) and Staphylococcus aureus (Gram-positive) using well diffusion and disk diffusion assays.

3-Results

X-ray diffraction (XRD) analysis revealed that the cerium-doped samples exhibited sharper and more intense peaks compared to the pure ZnO samples, indicating increased crystallinity and improved crystal quality. The diffraction peaks shifted toward lower angles, indicating changes in lattice parameters and a reduction in crystallite size due to substitution of Ce^{3+} ions for Zn^{2+} ions in the ZnO lattice. The crystallite sizes calculated using the Scherrer equation were approximately 70 nm for pure ZnO and 45 nm for $Zn_{0.98}Ce_{0.02}O_2$. These structural modifications played a significant role in enhancing the physicochemical properties and antibacterial activity of the nanoparticles.

Biological assays showed that both types of nanoparticles significantly inhibited bacterial growth, with cerium-doped nanoparticles demonstrating superior performance. The increased diameter of inhibition zones around disks and wells containing doped nanoparticles further confirmed the enhanced antibacterial efficacy. Additionally, Escherichia coli exhibited higher sensitivity to the nanoparticles compared to Staphylococcus aureus, which can be attributed to differences in their cell wall structures.

*Manuscript received February 27, 2025, Revised April 6, 2025, Accepted, July 6, 2025.

[1] Corresponding author. Associate Professor, Department of Biotechnology, Faculty of Biological Sciences, Alzahra University, Tehran, Iran , **Email**: n.khatir@alzahra.ac.ir

[2] M. Sc. Department of Biotechnology, Faculty of Biological Sciences, Alzahra University, Tehran, Iran.

[3] Associate Professor Department of Biotechnology, Faculty of Biological Sciences, Alzahra University, Tehran, Iran.

[4] Associate Professor Department of Microbiology, Faculty of Biological Sciences, Alzahra University, Tehran, Iran

[5] Assistant Professor Department of Pediatrics, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran.

[6] Associate Professor Nanobiotechnology Lab., Central Lab., Esfarayen University of Technology, Esfarayen, North Khorasan, Iran.

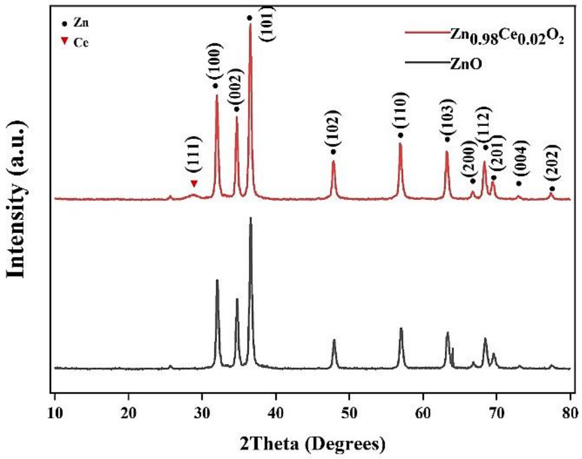


Fig. 1. X-ray diffraction pattern for pure ZnO nanoparticles and cerium-doped ZnO nanoparticles ($Zn_{0.98}Ce_{0.02}O_2$)

4- Discussion

XRD data indicated that cerium incorporation into the ZnO crystal lattice increased crystallinity and reduced crystallite size, which likely increased the active surface area and improved antibacterial properties. Cerium doping also enhanced ROS generation, thereby intensifying the nanoparticles' ability to damage bacterial cell structures. The observed difference in sensitivity between Gram-negative and Gram-positive bacteria is attributed to the structural differences in their cell walls, with Gram-negative bacteria generally exhibiting higher permeability to nanoparticles.

5- Conclusion

This study demonstrated that doping ZnO nanoparticles with cerium not only improves their structural and crystalline properties but also significantly enhances their antibacterial activity. The unique combination of ZnO and CeO_2 properties offers great potential for developing novel antibacterial agents for medical and environmental applications.

مهندسی متالورژی و مواد، ۳۶، ۳، ۱۴۰۴. (۶۴-۵۵)

مهندسی متالورژی و مواد

https://jmme.um.ac.ir/

انجمن آهن و فولاد ایران

دانشگاه فردوسی مشهد

سنتز و بررسی عملکرد ضد باکتری نانوذرات اکسید روی آلاییده شده با سریم*

مقاله پژوهشی

نادیا محمودی خطیر[۱] فریبا عبادی فلاح[۲] زهرا ناظم بکائی[۳] علی محمدی[۴] هادی خرسند زاک[۵] علی خرسند زاک[۶]

DOI: 10.22067/jmme.2025.92358.1193

چکیده *این پژوهش به‌طور تخصصی به بررسی خواص آنتی‌بیوتیکی نانوذرات اکسید روی (ZnO) دوپ شده با سریوم پرداخته است. نانوذرات مورد مطالعه به روش سبز سل-ژل سنتز شدند و فعالیت ضدمیکروبی آن‌ها در برابر دو گونه باکتری گرم‌منفی (E. coli) و گرم‌مثبت (S. aureus) در غلظت‌های ۱۰۰۰ و ۴۰۰۰ ppm با استفاده از دو روش چاهک‌گذاری و دیسک دیفیوژن و از طریق اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد، ارزیابی گردید. نتایج حاصل نشان داد که باکتری E. coli حساسیت بیشتری نسبت به نانوذرات نشان داد که این امر احتمالا به تفاوت ساختاری دیواره سلولی این دو باکتری بازمی‌گردد. هر دو نوع نانوذره (ZnO و $Zn_{0.98}Ce_{0.02}O_2$) دارای خاصیت ضدمیکروبی بودند، اما افزودن سریوم به ساختار ZnO موجب افزایش قابل توجه اثربخشی آنتی‌بیوتیکی شد، به‌طوری که قطر هاله عدم رشد در نمونه‌های حاوی سریوم بزرگ‌تر بود. این نتایج بیانگر آن است که دوپ کردن با سریوم علاوه بر ایجاد تغییرات مورفولوژیکی در ساختار نانوذرات، موجب بهبود خواص ضدمیکروبی آن‌ها نیز می‌شود. افزایش قطر هاله‌های عدم رشد در اطراف دیسک‌ها و چاهک‌های حاوی نانوذرات دوپ شده با سریوم، صحت این یافته را تأیید می‌کند.*

واژه های کلیدی بیوپلیمر ، سل-ژل، سنتز سبز ، نانوذرات اکسید روی-سریوم.

Developing Antibacterial Materials: Synthesis and Characterization of Cerium-Doped Zinc Oxide Nanoparticles

Nadia Mahmoudi Khatir[1] Fariba Ebadi Fallah[2] Zahra Nazem Bokaei[3] Ali Mohammadi[4] Hadi Khorsand Zak[5] Ali Khorsand Zak[6]

Abstract *This study specifically investigates the antibiotic properties of cerium-doped zinc oxide (ZnO) nanoparticles. The nanoparticles were synthesized using a green sol-gel method, and their antimicrobial activity was evaluated against two bacterial strains: Gram-negative (E. coli) and Gram-positive (S. aureus), at concentrations of 1000 and 4000 ppm. The assessment was performed using both well diffusion and disk diffusion methods by measuring the diameter of the inhibition zones. The results demonstrated that E. coli exhibited greater sensitivity to the nanoparticles, which is likely attributable to structural differences in the cell walls of these two bacterial species. Both types of nanoparticles (pure ZnO and $Zn_{0.98}Ce_{0.02}O_2$) showed antimicrobial properties; however, the incorporation of cerium into the ZnO structure significantly enhanced its antibiotic efficacy, as evidenced by the larger inhibition zones observed in the cerium-containing samples. These findings indicate that cerium doping, in addition to inducing morphological changes in the nanoparticles, also leads to improved antimicrobial properties. The increased diameters of inhibition zones around the disks and wells containing cerium-doped nanoparticles further confirm this observation.*

Keywords Biopolymer, sol-gel, green synthesis, zinc oxide-cerium nanoparticles.

* تاریخ دریافت مقاله ۱۴۰۳/۱۲/۹ و تاریخ پذیرش آن ۱۴۰۴/۴/۱۶ می‌باشد.

(۱) نویسندهٔ مسئول، دانشیار، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهرا (س)، تهران.

Email: n.khatir@alzahra.ac.ir

(۲) دانشجو کارشناسی ارشد، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهرا (س)، تهران.

(۳) دانشیار، گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهرا (س)، تهران.

(۴) دانشیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهرا (س)، تهران.

(۵) استادیار، گروه آموزشی کودکان، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد.

(۶) دانشیار، مجتمع آموزش عالی فنی و مهندسی اسفراین؛ اسفراین؛ خراسان شمالی.

مقدمه

خواص بی‌نظیر شیمیایی، فیزیکی و بیولوژیکی نانوذرات اکسید فلز، این مواد را به کانون توجه پژوهشگران در سال‌های اخیر تبدیل کرده است و آنها را به گزینه های امیدوارکننده‌ای برای طیف گسترده‌ای از کاربردها، از جمله در زمینه‌های پزشکی و زیست محیطی تبدیل کرده است [1]. در این میان، نانوذرات اکسید روی (ZnO) به دلیل خواص ضد باکتریایی استثنایی، سطح بالای سطح و توانایی برهمکنش با سلول‌های میکروبی برجسته هستند. این نانوذرات به طور گسترده به دلیل پتانسیل آنها برای مبارزه با میکروارگانیسم های بیماری زا مختلف مورد مطالعه قرار گرفته است، و جایگزینی برای آنتی بیوتیک های سنتی، به ویژه در دورانی که با افزایش مقاومت ضد میکروبی مشخص شده است، ارائه می دهد [2,3].

افزودن عناصر اضافی در نانوذرات ZnO به عنوان یک استراتژی موثر برای افزایش بیشتر اثر ضد باکتریایی آنها ظاهر شده است. یکی از این عناصر، سریم (Ce)، یک فلز خاکی کمیاب است که به دلیل خواص کاتالیزوری و اکسیداتیو شناخته شده است [4]. نانوذرات دوپ شده با سریم فعالیت اکسیداسیون و کاهش افزایش یافته ای را نشان داده اند که می تواند نقش مهمی در مختل کردن غشای سلولی باکتری ها، تولید گونه های فعال اکسیژن (ROS) و افزایش عملکرد باکتری کشی داشته باشد. با این حال، اثرات آلودگی سریم بر عملکرد ضد باکتریایی نانوذرات اکسید روی به طور کامل بررسی نشده است [4,5]. به عبارتی نانوذرات اکسید روی (ZnO NPs) به دلیل ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خاص خود، از جمله اندازه کوچک، نسبت سطح به حجم بالا و بار سطحی مثبت، دارای فعالیت ضدباکتریایی قوی علیه باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت هستند. این نانوذرات از طریق تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) مانند پراکسید هیدروژن و رادیکال‌های هیدروکسیل، آزادسازی یون‌های Zn^{2+} و تعامل الکترواستاتیک با غشای سلولی باکتری‌ها، باعث آسیب اکسیداتیو به DNA، پروتئین‌ها و لیپیدهای غشایی شده و با ایجاد اختلال در نفوذپذیری غشا، منجر به مرگ سلولی می‌شوند. نانوذرات اکسید سریم (CeO_2 NPs) نیز از طریق تماس مستقیم با غشای باکتری، تغییر ویسکوزیته غشا، اختلال در انتقال مواد غذایی و تولید ROS ناشی از تغییر حالت اکسیداسیون بین Ce^{3+} و Ce^{4+}، اثر ضدباکتریایی قابل توجهی دارند. همچنین، این نانوذرات با داشتن سطح ویژه بالا و نقص‌های اکسیژنی فراوان، تولید ROS را افزایش داده و با آسیب فیزیکی به غشای باکتری، رشد میکروارگانیسم‌ها را مهار می‌کنند. این مکانیسم‌های چندگانه باعث می‌شود احتمال بروز مقاومت میکروبی در برابر این نانوذرات به طور قابل توجهی کاهش یابد [6-8].

سریوم یکی از عناصر خاکی کمیاب با قابلیت اکسیداسیون بالا است که به دلیل داشتن دو حالت اکسیداسیون +۳ و +۴، در واکنش‌های اکسایش-کاهش و فرآیندهای کاتالیزوری اهمیت زیادی دارد. اکسید سریوم (CeO_2) به عنوان یک کاتالیزور قوی در صنایع خودروسازی برای کاهش آلاینده‌ها، در پولیش شیشه و لنزهای نوری و همچنین در تولید آلیاژهای خاص کاربرد دارد. نانوذرات اکسید سریوم به دلیل خواص ضدباکتریایی و سمیت پایین برای سلول‌های انسانی، در حوزه‌های زیستی و پزشکی نیز مورد توجه قرار گرفته‌اند و می‌توانند با تولید گونه‌های فعال اکسیژن و آسیب به غشای سلولی باکتری‌ها، موجب مهار رشد میکروارگانیسم‌های مختلف شوند. این ویژگی‌ها باعث شده است که نانوذرات اکسید سریوم پتانسیل بالایی برای توسعه مواد ضدعفونی‌کننده و کاربردهای پزشکی داشته باشند [9,10].

این مطالعه بر سنتز نانوذرات اکسید روی آلوده به سریم تمرکز دارد و خواص ضد باکتریایی آنها را در برابر سویه‌های باکتریایی گرم منفی و مثبت از جمله E. coli (اشریشیا کلی) و Staphylococcus aureus (استافیلوکوک اورئوس) از طریق تست هاله عدم رشد با دو تکنیک چاهک‌گذاری و دیسک دیفیوژن مورد بررسی قرار گرفت. هدف این است که درک کنیم که چگونه معرفی سریم بر عملکرد ساختاری، مورفولوژیکی و ضد باکتریایی نانوذرات ZnO تأثیر می‌گذارد و تعیین اینکه آیا دوپینگ سریم کارایی ضدباکتریایی ZnO را افزایش می‌دهد یا تغییر می‌دهدیا خیر.از طریق این تحقیق، ما به دنبال ارائه بینش های جدیدی در مورد کاربرد بالقوه نانوکامپوزیت های ZnO-Ce در درمان های ضد باکتریایی، به ویژه برای دستگاه های پزشکی، پوشش ها و گندزدایی محیطی هستیم.

کارهای تجربی

ساخت نانوذرات

ابتدا ۴ گرم پودر ژلاتین در ۶۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد. این محلول در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد روی هات‌پلیت گرم شد تا

ژلاتین کاملا در آب حل شود. سپس، به ترتیب، ۰٫۳۵۴۵۱ گرم نیترات روی هگزاهیدرات ($Zn(NO_3)_2.6H_2O$) در ۲۰ میلی‌لیتر آب و ۰٫۲۰۹۵۸۲ گرم نیترات سریم هگزاهیدرات ($Ce(NO_3)_3.6H_2O$) در ۲۰ میلی‌لیتر آب حل شدند. محلول‌های حاوی نمک‌های فلزی به آرامی به محلول ژلاتین اضافه شدند.

محلول نهایی تا دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد گرم شد و سپس روی هات‌پلیت قرار داده شد تا آب آن تبخیر شود و محلول غلیظ و ویسکوز شود. این فرآیند تا زمانی ادامه یافت که حدود ۷ میلی‌لیتر از محلول باقی ماند.

در نهایت، مقدار کمی از ژل حاصل شده در یک بوته چینی قرار داده شد و به مدت ۲ ساعت در دمای ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد کلسینه شد. نرخ گرمایش نیز ۵ درجه سانتی‌گراد در دقیقه تنظیم شد. این فرآیند منجر به تشکیل نانوذرات اکسید روی دوپ شده با سریوم شد.

تعیین اثر ضد میکروبی نانوذرات $Zn_{(1-x)}Ce_{(x)}O_2$ بر روی باکتری‌های E. coli و.Staphylococcus aureus به روش چاهک

در مرحله اول، کلیه تجهیزات و محیط کشت‌ها استریل شدند . این تجهیزات شامل محیط کشت‌های نوترینت آگار و نوترینت براث، سرسمپلر، سوآپ، پیپت پاستور و لوله‌های آزمایش بود. پس از استریل کردن، باکتری‌های E. coli و Staphylococcus aureusدر محیط کشت نوترینت براث کشت داده شده و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور شیکردار قرار گرفتند تا رشد کافی داشته باشند. همزمان، محیط کشت نوترینت آگار در پلیت‌های پتری ریخته شد تا برای مراحل بعدی آماده باشد. در ادامه، محلول‌های نانوذرات با غلظت‌های ۱۰۰۰، ۲۰۰۰، ۴۰۰۰ و ۸۰۰۰ ppm تهیه و به منظور یکنواختی، به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد سونیکه شدند .قبل از استفاده از محلول‌ها، به دلیل احتمال ته نشینی ذرات، آن‌ها را به خوبی ورتکس شدند.

در روز دوم، کشت باکتریایی به کدورت ۰٫۵ مک‌فارلند استانداردسازی شد .برای این منظور، ابتدا مقداری از محیط کشت نوترینت براث (به عنوان بلانک) در یک کووت ریخته و دستگاه اسپکتروفتومتر روی آن صفر شد. سپس، مخلوطی از کشت باکتریایی و محیط کشت نوترینت براث تهیه و کدورت آن اندازه‌گیری شد. این کار تا زمانی ادامه یافت که کدورت مخلوط به ۰٫۵ مک‌فارلند برسد.پس از استانداردسازی، ۵ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی با کدورت ۰٫۵ مک‌فارلند بر روی سطح پلیت آگار کشت داده شد و با استفاده از سوآپ استریل به صورت مارپیچ پخش گردید [11].

در ادامه، با استفاده از انتهای استریل یک پیپت پاستور، چاهک‌هایی در محیط کشت آگار ایجاد و با ۲۰ میکرولیتر محیط کشت آگار پر شدند .سپس، ۵۰ میکرولیتر از محلول نانوذره با غلظت مشخص به هر یک از چاهک‌ها اضافه شد.

پلیت‌های کشت حاوی چاهک‌ها به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت در انکوباتور قرار داده شدند .پس از گذشت این مدت، قطر هاله‌های عدم رشد (منطقه‌ای که در اطراف چاهک‌ها باکتری رشد نکرده است) اندازه‌گیری شد. با مقایسه اندازه این هاله‌ها در زمان‌های مختلف و غلظت‌های متفاوت نانوذرات، می‌توان به اثر ضد میکروبی نانوذرات پی برد [12].

تعیین اثر ضد میکروبی نانوذرات $Zn_{(1-x)}Ce_{(x)}O_2$ بر روی باکتری‌های E. coli و Staphylococcus aureus به روش دیسک دیفیوژن

در این مطالعه، از روش دیسک دیفیوژن برای ارزیابی خاصیت ضد میکروبی نانوذرات زینک-سریوم بر روی باکتری‌های گرم مثبت (استافیلوکوک اورئوس) و گرم منفی (اشرشیا کلی) استفاده شد. پس از آماده‌سازی محیط کشت و کشت باکتری‌ها، دیسک‌های کاغذی با غلظت‌های مختلف نانوذرات آغشته شده و بر روی پلیت‌های کشت داده شده قرار گرفتند. همچنین، دیسک‌های بلانک و حاوی آنتی‌بیوتیک به عنوان کنترل استفاده شدند [13]. پس از انکوباسیون، قطر هاله‌های عدم رشد اطراف دیسک‌ها اندازه‌گیری شد. افزایش قطر این هاله‌ها نشان‌دهنده افزایش اثر ضد میکروبی نانوذرات است. با مقایسه قطر هاله‌های ایجاد شده توسط دیسک‌های حاوی غلظت‌های مختلف نانوذرات و همچنین بین دو نوع باکتری، می‌توان به رابطه بین غلظت نانوذرات، نوع باکتری و اثر ضد میکروبی آن‌ها پی برد [14].

نتایج

نتایج پراش ایکس

نانوذرات اکسید روی (ZnO) به دلیل خواص ضدباکتریایی و ضد میکروبی برجسته خود، توجه محققان حوزه زیست پزشکی را به

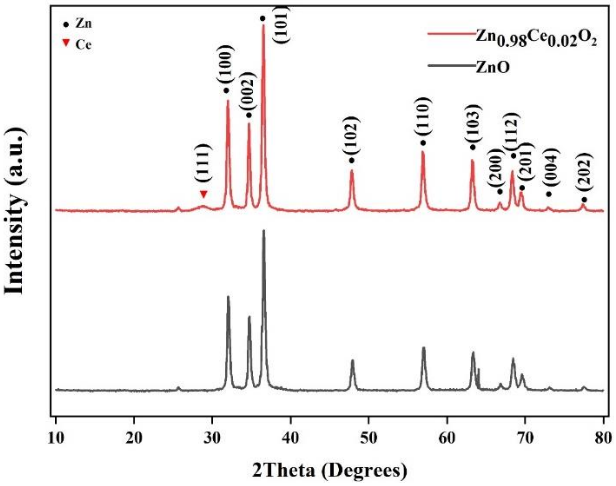
خود جلب کرده است. افزودن نانوذرات سریوم به این ترکیب، خواص آن را بهبود بخشیده و منجر به تشکیل ساختاری کریستالی‌تر نسبت به نانوذرات خالص ZnO یا CeO شده است. این امر به واسطه حضور قله‌های تیز و شدید در الگوی پراش اشعه ایکس (XRD) این نانوذرات دوپ شده با سریوم مشاهده می‌شود. در واقع، این نانوذرات داپ شده نسبت به نانوذرات خالص ZnO دارای پراش‌های بیشتری هستند که نشان‌دهنده افزایش نظم کریستالی آن‌ها است. این افزایش نظم کریستالی می‌تواند بر خواص فیزیکی و شیمیایی نانوذرات، از جمله فعالیت ضد میکروبی آن‌ها، تأثیرگذار باشد [15]. قله‌های تیز و بلند در نمودار پراش اشعه ایکس، نشانه‌ای از یک ساختار بلوری منظم و قوی هستند. وقتی سریوم به نمونه اضافه می‌شود، این قله‌ها برجسته‌تر می‌شوند که نشان می‌دهد افزودن سریوم باعث بهبود نظم اتمی و تقویت ساختار بلوری نمونه شده است [16].

در الگوی پراش اشعه ایکس (XRD) نمونه‌های مورد مطالعه با کد استاندارد 00-036-1451، قله‌هایی در زوایای مشخصی از جمله ۲۸٫۹، ۳۲، ۳۴٫۷۵، ۳۶٫۵۵، ۴۷٫۸۵، ۵۶٫۹، ۶۳٫۳، ۶۸٫۳۵، ۶۹٫۵، ۷۲٫۹ و ۷۲٫۹ درجه مشاهده شد. این قله‌ها که مربوط به صفحات کریستالی مختلف در ساختار اکسید روی هستند، در نمونه‌های دوپ شده با سریوم نیز مشاهده شدند. این امر نشان‌دهنده وجود درصد بالایی از نانوذرات اکسید روی در این نمونه‌هاست. با وجود دوپ کردن نمونه‌ها با سریوم، هیچ پیک مشخصی مربوط به ناخالصی‌های CeO_2 یا CeO_3 در الگوی XRD مشاهده نشد. این نشان می‌دهد که یون‌های سریوم به طور کامل در شبکه کریستالی اکسید روی جایگزین شده‌اند و ساختار بلوری کلی نمونه را به طور قابل توجهی تحت تأثیر قرار نداده‌اند. با این حال، با مقایسه الگوهای XRD نمونه‌های دوپ شده با نمونه خالص اکسید روی، مشاهده می‌شود که قله‌های پراش در نمونه‌های دوپ شده کمی به سمت زوایای پایین‌تر جابه‌جا شده‌اند. این جابه‌جایی نشان‌دهنده تغییر در پارامترهای شبکه بلوری و کاهش اندکی در اندازه کریستالیت‌های نانوذرات است که دارای ساختار شش وجهی هستند. این کاهش در اندازه کریستالیت‌ها با افزایش درصد دوپ سریوم مرتبط است [17]. شکل (۱) طیف پراش ایکس برای نمونه خالص و آلاییده شده با اکسید سریم را نشان می دهد. لازم به ذکر است آنالیز گسترش پیک XRD اندازه نانوبلورک را مورد ارزیابی قرار داده است.

اندازه ها با معادله شرر:

$$D = {}^{K\lambda}/_{\beta \cos\theta} \quad (۱)$$

محاسبه می شوند که در آن D اندازه بلورک ، K ثابت حدود ۰٫۹۴ است، λ طول موج تابش است (Å ۱٫۵۴۰۵۶ برای تابش Au-Kα)، β عرض کامل در نیمه حداکثر (FWHM) و θ موقعیت اوج است و اندازه نانوذرات ZnO و $Zn_{0.98}Ce_{0.02}O_2$ به ترتیب ۷۰ و ۴۵ نانومتر است.



شکل ۱ طیف پراش ایکس برای نمونه خالص و آلاییده شده با اکسیدسریم

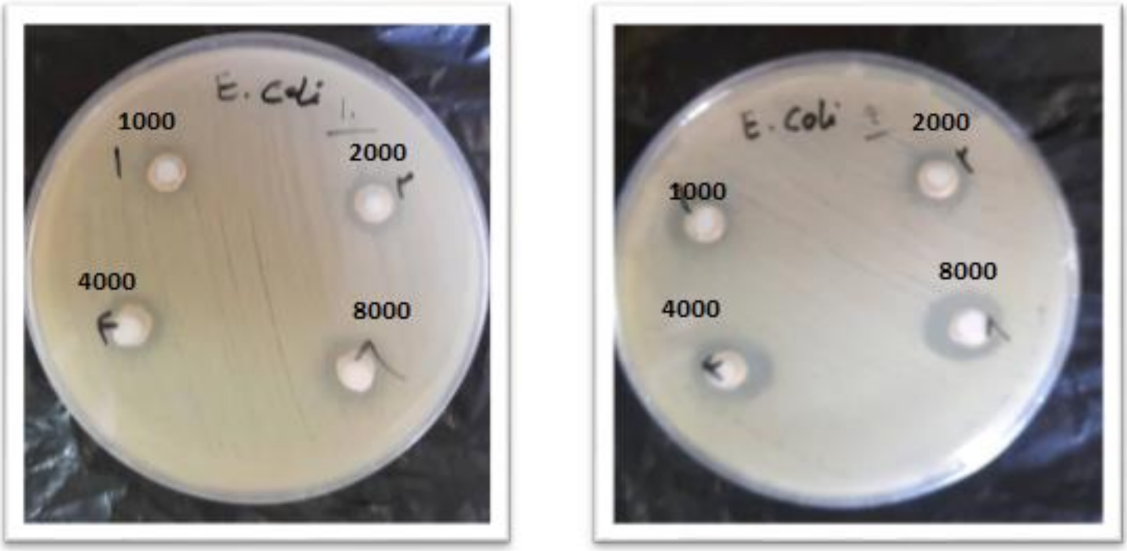
نتایج آزمایش هاله عدم رشد باکتری‌های E. coli و Staphylococcus aureus با نانوذرات $Zn_{(1-x)}Ce_{(x)}O_2$ به روش چاهک

پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون پلیت‌های حاوی چاهک‌هایی با غلظت‌های مختلف نانوذرات ZnO و $Zn_{0.98}Ce_{0.02}O_2$، هاله‌های عدم رشد مشخصی در اطراف چاهک‌ها مشاهده شد. قطر این هاله‌ها که نشان‌دهنده‌ی اثر ضد میکروبی نانوذرات است، اندازه‌گیری و ثبت گردید.

به طور کلی، مشاهده هاله عدم رشد به معنای حساسیت باکتری به ماده ضد میکروبی است. در این آزمایش، قطر هاله‌های عدم رشد برای هر دو نوع باکتری E. coli و Staphylococcus aureus در محدوده ۱۰ تا ۱۵ میلی‌متر اندازه‌گیری شد. این نشان می‌دهد که هر دو باکتری نسبت به نانوذرات اکسید روی خالص و دوپ شده با سریوم حساسیت نشان داده‌اند. لازم به ذکر است که قطر هاله عدم رشد به عنوان یک پارامتر کمی برای سنجش میزان حساسیت باکتری به ماده ضد میکروبی استفاده می‌شود. به طور معمول، هرچه قطر هاله بزرگ‌تر باشد، حساسیت باکتری به

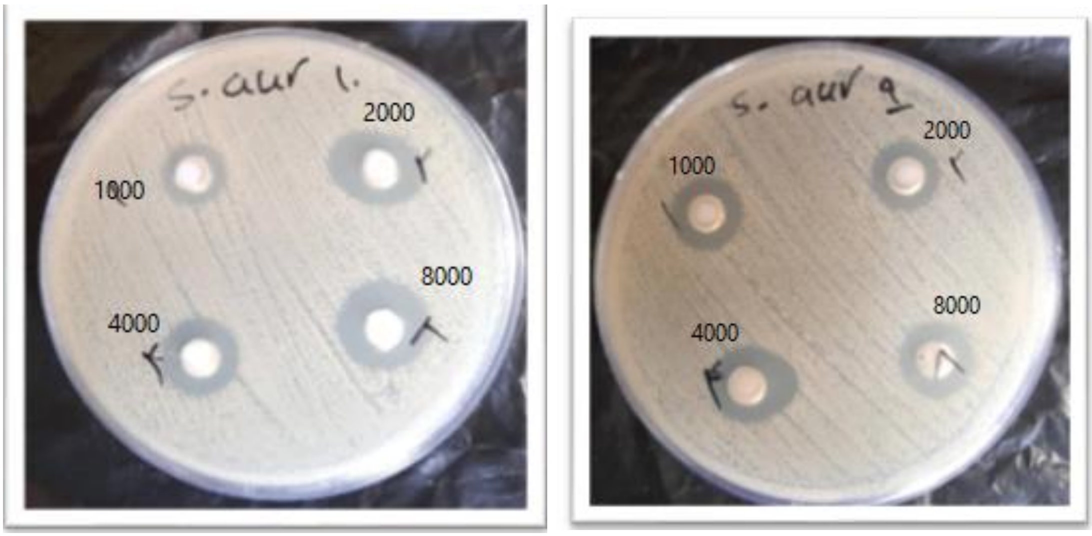
آن ماده بیشتر است. با این حال، این مقادیر به عوامل مختلفی مانند نوع محیط کشت، غلظت اولیه باکتری، و روش اندازه‌گیری بستگی دارد و مقایسه مستقیم آن‌ها با نتایج حاصل از سایر روش‌ها یا مواد ضد میکروبی دیگر نیاز به دقت بیشتری دارد [18]. شکل (۲) و (۳) به ترتیب هاله عدم رشد باکتری‌های E.COLI و S.AUREUS به روش چاهک برای نانوذرات اکسید روی خالص وآلاییده شده با سریم را نشان می‌دهد[11].

قطر هاله عدم رشد باکتری E.COLI با نانوذرات ZnO به روش چاهک در غلظت‌های ۱۰۰۰ و ppm۴۰۰۰ به ترتیب، ۹و۱۲ نانومتر، با نانوذرات $Zn_{0.98}Ce_{0.02}O_2$ به ترتیب۱۰ و۱۳ نانومتر است. به همین ترتیب قطر هاله عدم رشد باکتری S.AUREUS در غلظت‌های ذکر شده با نانوذرات ZnO ۹ و۱۲ و با نانوذرات $Zn0.98Ce0.02O_2$ ۱۰ و ۱۴ نانومتر بوده است.



B A

شکل ۲ هاله عدم رشد باکتری E.COLI به روش چاهک: نانوذراتZnO (A), نانوذرات $Zn_{0.98}Ce_{0.02}O_2$ (B)



B A

شکل ۳ هاله عدم رشدS.AUREUS روش چاهک: نانوذرات ZnO (A), نانوذرات $Zn_{0.98}Ce_{0.02}O_2$ (B)

نتایج آزمایش هاله عدم رشد باکتری های E. coli و Staphylococcus aureus با نانوذرات $Zn_{(1-x)}Ce_{(x)}O_2$ به روش دیسک دیفیوژن

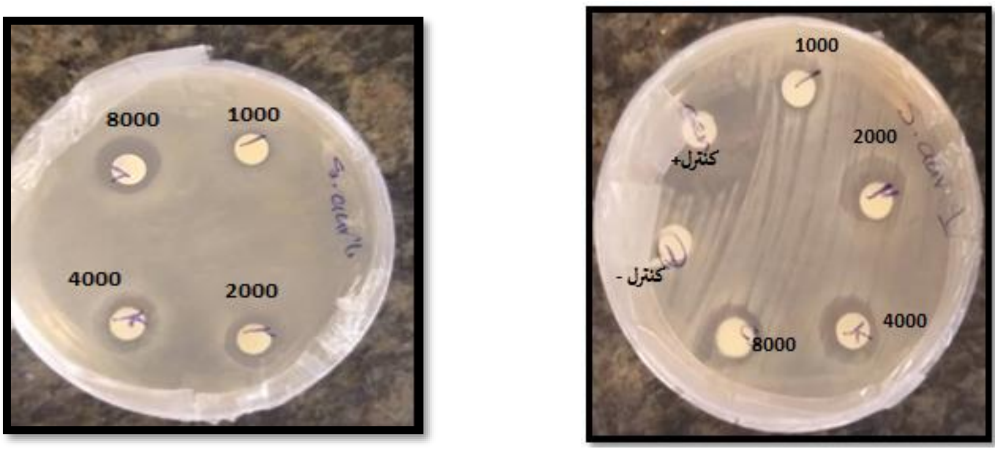
در آزمون دیسک دیفیوژن، پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون، هاله‌های عدم رشد به وضوح در اطراف دیسک‌های آغشته به نانوذرات اکسید روی (ZnO) و اکسید روی دوپ شده با سریم ($Zn_{0.98}Ce_{0.02}O_2$) با غلظت‌های ۱۰۰۰، ۲۰۰۰، ۴۰۰۰ و ۸۰۰۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد. قطر این هاله‌ها که نشان‌دهنده‌ی اثر ضد میکروبی نانوذرات است، اندازه‌گیری و ثبت گردید. عدم رشد باکتری در اطراف دیسک‌ها مؤید خاصیت ضد میکروبی قوی این نانوذرات می‌باشد. شکل (۴) و (۵) به ترتیب هاله عدم رشد باکتری های E.COLI و S.AUREUS به روش دیسک دیفیوژن برای نانوذرات اکسید روی خالص وآلاییده شده با سریم را نشان می دهد.

درواقع مکانیسم‌های اثرگذاری مواد ضدباکتری، به ویژه نانوذرات فلزی و اکسیدی، عمدتا شامل تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، آزادسازی یون‌های فلزی و آسیب مکانیکی به غشای سلولی است. در مورد نانوذرات اکسید سریم (CeO_2 NPs)، افزایش مقدار سریم باعث تقویت فعالیت ضدباکتریایی می‌شود؛ زیرا این نانوذرات با قابلیت تغییر حالت اکسیداسیون بین Ce^{3+} و Ce^{4+}، تولید ROS را افزایش داده و از طریق تعامل الکترواستاتیک با غشای باکتری، ویسکوزیته غشا را تغییر داده و عملکرد پمپ‌های یونی و انتقال مواد غذایی را مختل می‌کنند [7,19].



A B

شکل ۴ هاله عدم رشد باکتری E.COLI به روش تست دیفیوژن: نانوذرات ZnO (A) , نانوذرات $Zn_{0.98}Ce_{0.02}O_2$ (B)



A B

شکل ۵ هاله عدم رشد S.AUREUS روش تست دیفیوژن: نانوذرات ZnO (A), نانوذرات $Zn_{0.98}Ce_{0.02}O_2$ (B)

نتایج نشان داد که با افزایش غلظت نانوذرات، قطر هاله عدم رشد هر دو باکتری افزایش یافت. برای باکتری E. coli، قطر هاله عدم رشد با نانوذرات ZnO به ترتیب در غلظت‌های ۱۰۰۰ و ۴۰۰۰ ppm برابر با ۹ و ۱۱ میلی‌متر و با نانوذرات $Zn_{0.98}Ce_{0.02}O_2$ به ترتیب ۱۰ و ۱۲ میلی‌متر بود. همچنین برای باکتری S. aureus، این مقادیر با نانوذرات ZnO برابر با ۸ و ۱۰ میلی‌متر و با نانوذرات $Zn_{0.98}Ce_{0.02}O_2$ به ترتیب ۹ و ۱۱ میلی‌متر به دست آمد.

نتیجه و جمع بندی

در این پژوهش، نانوذرات اکسید روی خالص (ZnO) و دوپ شده با سریم ($Zn_{0.98}Ce_{0.02}O_2$) به روش سل-ژل سنتز شدند و فعالیت ضد میکروبی آن‌ها با استفاده از روش‌های چاهک‌گذاری و دیسک دیفیوژن ارزیابی گردید. نتایج حاصل از این آزمایش‌ها نشان داد که هر دو نوع نانوذره، در غلظت‌های ۱۰۰۰ و۴۰۰۰ ppm، توانایی مهار رشد باکتری‌ها را دارا می‌باشند. با افزودن دو درصد اتمی سریوم به ساختار اکسید روی، فعالیت ضد میکروبی نانوذرات افزایش یافت. این امر نشان می‌دهد که دوپ کردن با سریوم، علاوه بر تأثیر بر ساختار مورفولوژیکی نانوذرات، باعث بهبود خواص ضد میکروبی آن‌ها نیز می‌شود. افزایش قطر هاله‌های عدم رشد در اطراف دیسک‌ها و چاهک‌های حاوی نانوذرات دوپ شده، تأییدکننده‌ی این یافته است. همچنین، افزودن عنصر سریم به ساختارZnO ، به ویژه در غلظت‌های بالاتر و در روش چاهک، موجب بهبود اثربخشی ضدباکتریایی شد که احتمالا به دلیل افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن و تأثیرگذاری بیشتر بر غشای سلولی باکتری‌ها است. علاوه بر این، باکتری E. coli نسبت به S. aureus حساسیت بیشتری نسبت به این نانوذرات نشان داد که می‌تواند به تفاوت ساختار دیواره سلولی این دو نوع باکتری مربوط باشد. تفاوت‌های مشاهده‌شده میان دو روش آزمایش نیز نشان می‌دهد که انتخاب روش مناسب می‌تواند بر نتایج تأثیرگذار باشد. به طور کلی، این یافته‌ها اهمیت بهینه‌سازی ترکیب شیمیایی نانوذرات و انتخاب روش آزمایشگاهی صحیح را در افزایش کارایی ضدباکتریایی نانوذرات را مطرح می‌کند.

تقدیر و تشکر

مراجع

[1] O. Oprea, E. Andronescu, D. Ficai, A. Ficai, F. N Oktar, and M. Yetmez, "ZnO applications and challenges," *Current Organic Chemistry*, vol. 18, no. 2, pp. 192-203, 2014. https://doi.org/10.2174/13852728113176660143

[2] A. M. Díez-Pascual and A. L. Díez-Vicente, "High-performance aminated poly (phenylene sulfide)/ZnO nanocomposites for medical applications," *ACS applied materials & interfaces*, vol. 6, no. 13, pp. 10132-10145, 2014. https://doi.org/10.1021/am501610p

[3] V. Puspasari, A. Ridhova, A. Hermawan, M. I. Amal, and M. M. Khan, "ZnO-based antimicrobial coatings for biomedical applications," *Bioprocess and Biosystems Engineering*, vol. 45, no. 9, pp. 1421-1445, 2022. https://doi.org/10.1007/s00449-022-02733-9

[4] D. E. Navarro-López *et al.*, "Nanocomposites based on doped ZnO nanoparticles for antibacterial applications," *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, vol. 652, p. 129871, 2022. https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2022.129871

[5] A. Srithar, J. Kannan, and T. Senthil, "Preparation and characterization of Ag doped ZnO nanoparticles and its antibacterial applications," *J adv chem*, vol. 13, no. 6, pp. 6273-6279, 2017.

[6] C. R. Mendes, G. Dilarri, C. F. Forsan, V. M. R. Sapata, P. R. M. Lopes, P. B. de Moraes, R. N. Montagnolli, H. Ferreira, and E. D. Bidoia, “Antibacterial action and target mechanisms of zinc oxide nanoparticles against bacterial pathogens,” *Scientific Reports*, vol. 12, no. 1, p. 2658, 2022. https://doi.org/10.1038/s41598-022-06657-y

[7] M. Qi, W. Li, X. Zheng, X. Li, Y. Sun, Y. Wang, C. Li, and L. Wang, “Cerium and its oxidant-based nanomaterials

for antibacterial applications: A state-of-the-art review," *Frontiers in Materials*, vol. 7, p. 213, 2020. https://doi.org/10.3389/fmats.2020.00213

[8] S.-Y. Byun, A. R. Han, K.-M. Kim, and J.-S. Kwon, "Antibacterial properties of mesoporous silica coated with cerium oxide nanoparticles in dental resin composite," *Scientific Reports*, vol. 14, no. 1, p. 18014, 2024. https://doi.org/10.1038/s41598-024-15014-3

[9] S. Chen, Y. Wang, S. Bao, L. Yao, X. Fu, Y. Yu, H. Lyu, H. Pang, S. Guo, H. Zhang, P. Zhou, and Y. Zhou, "Cerium oxide nanoparticles in wound care: A review of mechanisms and therapeutic applications," *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, vol. 12, p. 1404651, 2024. https://doi.org/10.3389/fbioe.2024.1404651

[10] A. Dhall and W. Self, "Cerium oxide nanoparticles: A brief review of their synthesis methods and biomedical applications," *Antioxidants*, vol. 7, no. 8, p. 97, 2018. https://doi.org/10.3390/antiox7080097

[11] R. C. d. Souza, L. U. Haberbeck, H. G. Riella, D. H. Ribeiro, and B. A. Carciofi, "Antibacterial activity of zinc oxide nanoparticles synthesized by solochemical process," *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, vol. 36, pp. 885–893, 2019. https://doi.org/10.1590/0104-6632.20190362s20180027

[12] D. Jain, Shivani, A. A. Bhojiya, H. Singh, H. K. Daima, M. Singh, S. R. Mohanty, B. J. Stephen, and A. Singh, "Microbial fabrication of zinc oxide nanoparticles and evaluation of their antimicrobial and photocatalytic properties," *Frontiers in Chemistry*, vol. 8, p. 778, 2020. https://doi.org/10.3389/fchem.2020.00778

[13] S. A. Abid, A. A. Taha, R. A. Ismail, and M. H. Mohsin, "Antibacterial and cytotoxic activities of cerium oxide nanoparticles prepared by laser ablation in liquid," *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 27, no. 24, pp. 30479–30489, 2020. https://doi.org/10.1007/s11356-020-09332-9

[14] M. Azizi-Lalabadi, A. Ehsani, B. Divband, and M. Alizadeh-Sani, "Antimicrobial activity of titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles supported in 4A zeolite and evaluation the morphological characteristic," *Scientific Reports*, vol. 9, no. 1, pp. 1–10, 2019. https://doi.org/10.1038/s41598-019-54025-0

[15] C. F. Holder and R. E. Schaak, "Tutorial on powder X-ray diffraction for characterizing nanoscale materials," *ACS Nano*, vol. 13, no. 7, pp. 7359–7365, 2019. https://doi.org/10.1021/acsnano.9b05157

[16] D. H. Youn, N. M. Tran, B. J. Kim, Y. Kim, J. P. Jeon, and H. Yoo, "Shape effect of cerium oxide nanoparticles on mild traumatic brain injury," *Scientific Reports*, vol. 11, no. 1, pp. 1–8, 2021. https://doi.org/10.1038/s41598-021-81885-4

[17] D. K. Sharma, K. K. Sharma, V. Kumar, and A. Sharma, "Effect of Ce doping on the structural, optical and magnetic properties of ZnO nanoparticles," *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, vol. 27, no. 10, pp. 10330–10335, 2016. https://doi.org/10.1007/s10854-016-5117-x

[18] M. Alavi, S. Dehestaniathar, S. Mohammadi, A. Maleki, and N. Karimi, "Antibacterial activities of phytofabricated ZnO and CuO NPs by Mentha pulegium leaf/flower mixture extract against antibiotic resistant bacteria," *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, vol. 11, no. 3, p. 497, 2021. https://doi.org/10.34172/apb.2021.057

[19] L. Wang, C. Hu, and L. Shao, "The antimicrobial activity of nanoparticles: Present situation and prospects for the future," *International Journal of Nanomedicine*, vol. 12, pp. 1227–1249, 2017. https://doi.org/10.2147/IJN.S121956